

## γ-氨基丁酸（GABA）含量试剂盒说明书

（货号：ADS-F-AJS009 分光法 48 样）

### 一、产品简介：

4-氨基丁酸（GABA）广泛分布在动植物体中。在动物体内 GABA 几乎只存在于神经组织中。在植物中如豆属、参属、中草药等的种子、根茎和组织液中都含有 GABA，且与植物的环境应激反应有关。

4-氨基丁酸（GABA）在碱性溶液中与次氯酸盐和苯酚反应生成蓝绿色物质，通过检测该有色物质在 645nm 波长处的值，即可得出样本中 GABA 的含量。

### 二、试剂盒的组分与配制：

| 试剂名称 | 规格          | 保存要求  | 备注   |
|------|-------------|-------|--|
| 提取液  | 液体 60mL×1 瓶 | 4°C保存 |  |
| 试剂一  | 液体 4mL×1 瓶  | 4°C保存 |  |
| 试剂二  | 液体 2mL×1 支  | 4°C保存 | 临用前取出 0.13mL 试剂二至一支新 EP 管中，再向其中加入 1.87mL 蒸馏水混匀做为试剂二使用（该液体一周内用完）。 |
| 试剂三  | 液体 10mL×1 瓶 | 4°C保存 |  |
| 标准品  | 粉体 1 支      | 4°C保存 | 若重新做标曲，则用到该试剂。   |

### 三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）、可调式移液枪、水浴锅、离心机、研钵、蒸馏水。

### 四、γ-氨基丁酸（GABA）含量测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

#### 1、样本制备：

① 组织样本：称取约 0.1g 组织样本加入研钵中，加入 1mL 提取液，在冰上进行匀浆，12000rpm，4°C 或室温离心 10min，取上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液（mL）为 1：5~10 的比例进行提取。

② 细菌/细胞样本：先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；12000rpm 4°C 离心 10min，取上清，置冰上待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（10<sup>4</sup>）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样本：澄清的液体样本直接测定，若浑浊则离心后取上清检测。

#### 2、上机检测：

① 可见分光光度计预热 30 min，调节波长到 645 nm，蒸馏水调零。

② 所有试剂解冻至室温（25°C）。则试剂一和二可按照 60:400 的比例预先配制成混合液（用多少配多少，现配现用），在 EP 管中依次加入：

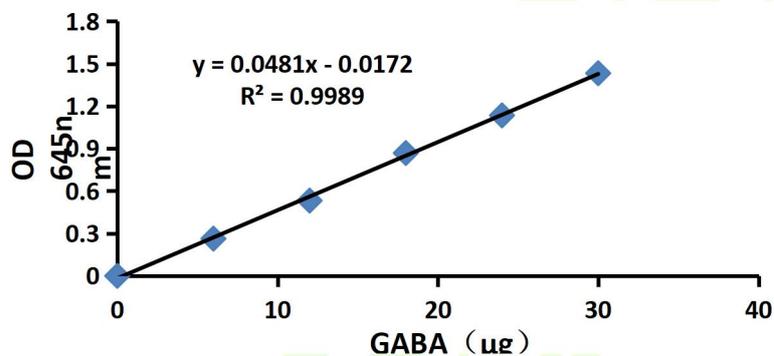
| 试剂名称（μL） | 测定管 | 空白管（仅做一次） |
|----------|-----|-----------|
| 样本       | 100 |           |
| 蒸馏水      |     | 100       |
| 混合液      | 460 | 460       |

| 试剂三  | 200 | 200 |
|--|-----|-----|
| 混匀, 沸水浴 (95-100°C) 10min, 冰浴至室温, 若浑浊需 12000rpm 离心 5min, 取全部澄清上清液转移至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 于 645nm 处读取各管的 A 值, $\Delta A = A - \text{测定} - A - \text{空白}$ 。 |     |     |

- 【注】1.若测定管的 A 值大于 1.5, 则需将样本进行稀释 (用蒸馏水稀释), 稀释倍数 D 需代入计算公式重新计算。
- 2.若  $\Delta A$  值低于 0.01, 则可增加样本取样量 W (如增至 0.2g) 或增加样本加样量 V1 (如由 100 $\mu$ L 增至 200 $\mu$ L, 则混合液和试剂三均各自减少 50 $\mu$ L), 则 W 和 V1 代入计算公式重新计算。
- 3.若样本存在高背景值 (例如高含量的氨氮、铵根离子) 则不建议用此法检测。

## 五、结果计算:

- 1、标准曲线:  $y = 0.0481x - 0.0172$ , x 为标准品质量( $\mu$ g), y 为吸光值  $\Delta A$ 。



- 2、按样本质量计算:

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g/g 重量}) = [(\Delta A + 0.0172) \div 0.0481] \div (W \times V1 \div V) \times D$$

$$= 207.9 \times (\Delta A + 0.0172) \div W \times D$$

- 3、按细胞数量计算:

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.0172) \div 0.0481] \div (500 \times V1 \div V) \times D = 0.416 \times (\Delta A + 0.0172) \times D$$

- 4、液体中 GABA 含量计算:

$$\text{GABA 含量}(\mu\text{g}/\text{mL}) = [(\Delta A + 0.0172) \div 0.0481] \div V1 \times D = 207.9 \times (\Delta A + 0.0172) \times D$$

V---提取液体积, 1mL;

V1---样本加入体积, 0.1mL;

D---稀释倍数,未稀释即为 1;

W---样本取样质量;

500---细胞数量, 万。

附: 标准曲线制作过程:

- 1 标准品母液 (5mg/mL): 标准品临用前甩几下使粉体落入底部, 再加 2mL 蒸馏水溶解 (两天内用完)。
- 2 把母液稀释成以下浓度梯度的标准品: 0, 0.06, 0.12, 0.18, 0.24, 0.3 mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 按照测定管的加样体系操作, 根据结果即可制作标准曲线。